

载脂蛋白 A1 对多发性骨髓瘤预后的影响

沈静¹ 杨融辉² 张永超³ 廖爱军¹ 刘卓刚¹ 杨威¹

¹中国医科大学附属盛京医院血液科,沈阳 110004;²中国医科大学第一附属医院输血科,沈阳 110001;³中国医科大学附属盛京医院血液研究室,沈阳 110004

通信作者:杨威,Email:yangwei_sj@sina.com

【摘要】 目的 探讨多发性骨髓瘤患者血清载脂蛋白 A1 水平的变化及其临床意义。方法 统计 412 例多发性骨髓瘤患者的临床资料,以 93 名健康体检者为正常对照,使用 SPSS 22.0 进行数据分析。相关分析采用线性相关或 Spearman 秩相关系数。分析数据采用 *t* 检验、Mann-Whitney *U* 检验或单因素方差分析。采用 ROC 曲线计算分界值,并与 Kaplan-Meier 生存分析进行比较。结果 骨髓瘤组载脂蛋白 A1 水平低于正常对照组(0.89 g/L 对 1.24 g/L, $P < 0.05$)。载脂蛋白 A1 水平随疾病的不同阶段动态变化,当疾病缓解时载脂蛋白 A1 水平可升高,疾病进展时载脂蛋白 A1 水平降低。多因素分析表明载脂蛋白 A1 减少是多发性骨髓瘤的独立危险因素。高载脂蛋白 A1 组与低载脂蛋白 A1 组的 Kaplan-Meier 生存分析显示高载脂蛋白 A1 组有更高的生存率和更长的无进展生存期。结论 载脂蛋白 A1 是多发性骨髓瘤有效的肿瘤负荷标志物和预后因素。

【关键词】 载脂蛋白 A1; 多发性骨髓瘤; 肿瘤负荷; 预后

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.08.011

The influence of apolipoprotein A1 on the prognosis of multiple myeloma

Shen Jing¹, Yang Ronghui², Zhang Yongchao³, Liao Aijun¹, Liu Zhuogang¹, Yang Wei¹

¹Department of Hematology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China;

²Department of Blood Transfusion, China Medical University First Hospital, Shenyang 110001, China;

³Hematology Laboratory, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China

Corresponding author: Yang Wei, Email: yangwei_sj@sina.com

【Abstract】 Objective In this study, we aimed to determine the change and clinical significance of serum level Apo A1 in MM patients. **Methods** In total, 412 multiple myeloma patients were examined. SPSS 22.0 was used for data analysis. Correlation analysis was performed using linear correlation or Spearman rank correlation coefficients. Measurement data were analyzed with the *t*-test, Mann-Whitney *U*-test, or oneway analysis of variance (ANOVA). Used the ROC curve to calculate the cutoff value and compared the OS and PFS between high Apo A1 subgroup and low Apo A1 subgroup with Kaplan-Meier survival analysis. **Results** Our study showed that value of Apo A1 in the patient group was lower than that in the control group(0.89 g/L vs 1.24 g/L, $P < 0.05$). We found that Apo A1 dynamically changed with different MM stages. As it was increased when the disease was in remission, and decreased after disease in progression. According the result of multivariate analysis Apo A1 reduction become the independent risk factors of MM. On the basis of Kaplan-Meier survival analysis between high Apo A1 subgroup and low Apo A1 subgroup, we found higher Apo A1 patienta had longer OS rate and PFS. **Conclusions** Apo A1 is a useful biomarker of tumor burden and a prognostic factor of multiple myeloma.

【Key words】 Apolipoprotein A1; Multiple myeloma; Tumor burden; Prognosis

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.08.011

多发性骨髓瘤(MM)是常见的单克隆浆细胞异常增殖性疾病,占血液肿瘤的10%^[1]。现发现多种恶性肿瘤伴随脂质代谢异常,且血脂水平随疾病的转归发生变化^[2-3],因此干预脂质代谢可能是肿瘤的治疗途径^[4]。载脂蛋白 A1(Apo A1)是血脂的重要

组成部分,在体内会自发脂质化形成高密度脂蛋白,不仅参与脂肪代谢,而且表现出许多先天免疫活性。研究发现,ApoA1在卵巢癌、胰腺癌、儿童的复发神经母细胞瘤、膀胱癌及结肠癌中均出现异常^[5-7],在血清中的表达水平较正常人下调,说明

Apo A1 与人类肿瘤存在相关性。目前发现,用于治疗高脂血症的HMG-CoA还原酶抑制剂——他汀类药物可增加复发和难治性MM对药物的敏感性并降低耐药性^[8-10]。由此可见,调节血脂可影响MM的进程及预后。现关于MM与Apo A1相关性的报道比较少,因此我们对MM患者的Apo A1进行更详细的研究,明确Apo A1是否与MM存在相关性。

病例与方法

1. 病例:收集2012年1月至2017年1月就诊于我院血液科的412例初治MM患者的临床资料,其中男性228例,女性184例,中位年龄64(36~89)岁。排除伴有其他血液系统疾病、非血液系统恶性肿瘤、严重肝肾功能障碍、心脑血管疾病、高脂血症需要长期口服降血脂药物的患者及资料不全者。诊断、分级和疗效评估标准基于国际骨髓瘤工作组(IMWG)的诊断标准。治疗组的疗效评价由两名经验丰富的医师同时进行,在有异议的情况下由第三名医师进行评估。

对照组选取在本院体检正常者93名,排除心脑血管疾病、高脂血症及其他病史者。年龄、性别及体重指数(BMI)均与MM组匹配。

2. 血脂检测方法:在严格禁食至少6 h后抽取血样,使用免疫比浊终点检测法进行检测和定量分析。检验试剂统一使用德赛诊断系统有限公司Apo A1试剂盒。操作步骤按照制造商的说明书进行,并使用自动生化分析仪(OLYMPUS AU5400\5800)进行测试。

3. 统计学处理:应用SPSS 22.0软件进行统计学分析,符合正态分布的数据均采用均数±标准差表示。计量资料差异性分析采用独立样本 t 检验或Mann Whitney U 检验,计数资料采用交叉分析表,多因素分析采用Logistic回归分析,使用受试者工作特征(ROC)曲线预测疾病缓解。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. MM组与对照组Apo A1水平的比较:结果显示,MM组患者中位Apo A1水平为 $0.89(0.92 \pm 0.33)$ g/L,而对照组为 $1.24(1.25 \pm 0.20)$ g/L,MM组低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2. 分期和疗效分析:DS分期I期和III期MM患者Apo A1水平的差异有统计学意义 $[(1.01 \pm 0.30)$ g/L

对 (0.91 ± 0.31) g/L, $P = 0.017$], II期和III期MM患者Apo A1水平的差异有统计学意义 $[(0.99 \pm 0.37)$ g/L对 (0.91 ± 0.31) g/L, $P = 0.001$]。ISS分期I期和II期 $[(1.17 \pm 0.33)$ g/L对 (1.01 ± 0.36) g/L, $P = 0.014$]、I期和III期 $[(1.17 \pm 0.33)$ g/L对 (0.87 ± 0.29) g/L, $P = 0.001$]、II期和III期 $[(1.01 \pm 0.36)$ g/L对 (0.87 ± 0.29) g/L, $P = 0.001$] MM患者Apo A1水平的差异均有统计学意义。

412例患者中,有341例患者接受以硼替佐米为主的化疗方案6个疗程,其中接受PCD方案者298例,接受PAD方案者18例,接受PD方案者25例。341例患者按照疗效分组,完全缓解(CR)组119例,部分缓解(PR)组97例,稳定(SD)组80例,进展/复发(PD/relapse)组45例。CR组、PR组、SD组及PD/relapse组患者治疗前Apo A1水平分别为 (1.037 ± 0.378) g/L、 (0.937 ± 0.338) g/L、 (0.844 ± 0.265) g/L和 (0.851 ± 0.320) g/L,各组间的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。对规律治疗6个疗程患者治疗前后Apo A1水平进行比较,显示Apo A1在MM病程中有动态变化。CR、PR、PD/relapse组患者治疗前后的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。SD组患者治疗后Apo A1水平较治疗前略升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)(图1)。

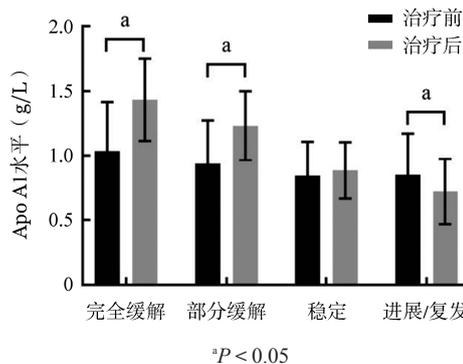


图1 不同疗效组多发性骨髓瘤患者治疗前后载脂蛋白A1(Apo A1)水平的变化

3. Apo A1对预后的影响:将完成6个疗程治疗的MM患者分为缓解组(CR、PR)及未缓解组(SD、PD/relapse),具体信息见表1。结果显示,Apo A1、载脂蛋白B、胆固醇、乳酸脱氢酶(LDH)、DS分期III期、ISS分期在缓解组与未缓解组间的差异有统计学意义。

采用Logistic回归对表1中有差异的因素进行风险因素评估(表2)。结果显示,治疗前Apo A1的降低程度可影响预后,Apo A1是未缓解的独立危险

表1 缓解组与未缓解组多发性骨髓瘤患者临床资料比较

变量	缓解组(216例)	未缓解组(125例)	统计量	P值
载脂蛋白A1(g/L, $\bar{x}\pm s$)	0.99±0.36	0.62±0.49	3.833	0.040
载脂蛋白B(g/L, $\bar{x}\pm s$)	0.71±0.34	0.57±0.50	1.987	0.518
体重(kg, $\bar{x}\pm s$)	64.88±10.98	65.9±11.87	-0.787	0.825
甘油三酯(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	1.4±0.86	1.41±1.25	-0.103	0.714
胆固醇(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	3.72±1.48	3.31±1.39	2.535	0.042
血清免疫固定电泳(例, 阳性/阴性)	182/34	100/25	1.003	0.316
尿免疫固定电泳(例, 阳性/阴性)	112/104	61/64	0.295	0.587
骨髓瘤细胞比例[%, M (范围)]	37.71(15.23~86.18)	45.20(18.02~93.63)	-0.831	0.292
HGB(g/L, $\bar{x}\pm s$)	100.95±31.70	96.88±31.75	1.141	0.842
β_2 -微球蛋白[mg/L, M (范围)]	3.66(1.09~74.10)	4.92(1.69~91.20)	-3.790	0.634
LDH[U/L, M (范围)]	157(60~1020)	213(49~1741)	-1.944	0.042
ISS分期(%)				
I期	13.89	4.80	6.930	0.008
II期	31.94	18.40	7.373	0.007
III期	54.17	76.80	17.300	0.001
DS分期(%)				
I期	10.19	4.80	3.050	0.081
II期	25.46	18.40	2.240	0.135
III期	64.35	76.80	5.730	0.017

表2 412例多发性骨髓瘤患者预后不良的危险因素分析

因素	单因素分析		多因素分析	
	P值	OR(95% CI)	P值	OR(95% CI)
载脂蛋白A1(≤ 1.4 g/L, > 1.4 g/L)	0	4.319(1.979~9.430)	0.039	2.762(1.052~7.250)
总胆固醇(≤ 5.69 mmol/L, > 5.69 mmol/L)	0.130	1.235(1.046~1.459)	0.816	1.024(0.842~1.245)
LDH(≤ 285 U/L, > 285 U/L)	0.068	0.998(0.996~1.000)	0.090	0.998(0.996~1.000)
ISS分期				
II期, I期	0.239	0.552(0.205~1.484)	0.527	0.672(0.196~2.300)
III期, I期	0.003	0.249(0.099~0.623)	0.041	0.374(0.112~0.942)
DS分期				
II期, I期	0.414	0.652(0.234~1.819)	0.804	0.851(0.236~3.061)
III期, I期	0.053	0.395(0.154~1.010)	0.724	0.801(0.234~2.739)

因素($OR = 2.762$, 95% CI 1.052~7.250, $P = 0.039$), ISS分期III期也是未缓解的独立危险因素($OR = 0.374$, 95% CI 0.112~0.942, $P = 0.041$)。

采用ROC曲线对患者的Apo A1进行分析,结果显示最佳临界值为0.865 g/L(曲线下面积0.628)(图2),其灵敏度及特异度分别为60.65%及60%。根据这一临界值进行危险因素分析, Apo A1 > 0.865 g/L患者缓解的可能性较Apo A1 < 0.865 g/L患者高($OR = 2.578$, 95% CI 1.559~4.262, $P = 0.011$)。

以0.865 g/L为分界值将患者分为低Apo A1组(160例)和高Apo A1组(181例)。通过Kaplan-Meier生存分析比较两组患者的总生存(OS)期和无进展生存(PFS)期。本研究随访3年,除死亡患者外

无失访病例。低Apo A1组的中位OS期和PFS期分别为29个月和24个月,而高Apo A1组暂未到达中

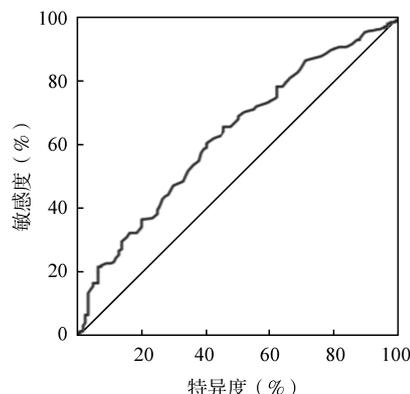


图2 载脂蛋白A1预测多发性骨髓瘤患者疗效的ROC曲线

位 OS 期和 PFS 期。3 年低 Apo A1 组死亡 99 例, 高 Apo A1 组死亡 57 例。结果证明, Apo A1 水平高的患者有更长的 OS 期和 PFS 期 ($P < 0.05$) (图 3、图 4)。

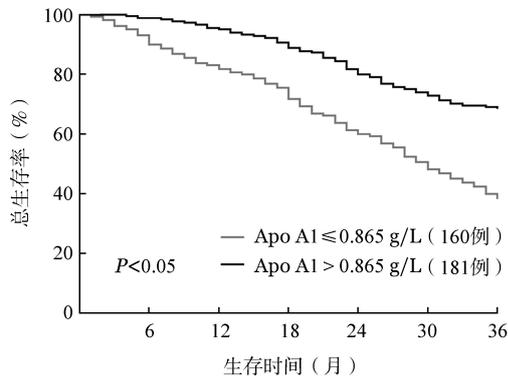


图 3 高载脂蛋白 A1 (Apo A1) 组和低 Apo A1 组多发性骨髓瘤患者的总生存曲线

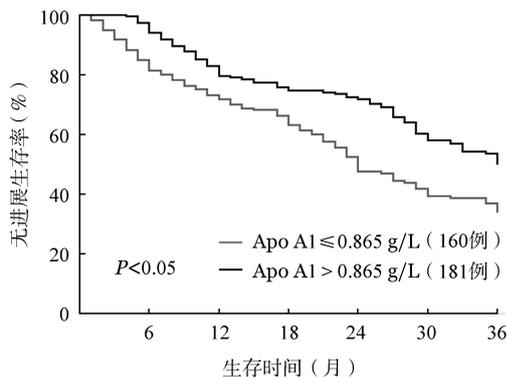


图 4 高载脂蛋白 A1 (Apo A1) 组和低 Apo A1 组多发性骨髓瘤患者的无进展生存曲线

讨 论

本研究结果显示 MM 患者的 Apo A1 普遍下降, 治疗后达到缓解的患者 Apo A1 较前有显著提升。DS 分期可反映肿瘤负荷, 我们发现 DS III 期 MM 患者的 Apo A1 水平明显低于 I 期及 II 期 MM 患者, 符合高肿瘤负荷患者 Apo A1 低的倾向, 因此 Apo A1 与 MM 肿瘤负荷呈负相关。本研究中随着 ISS 分期的升高, Apo A1 明显减低, 表明 Apo A1 低者预后差。Apo A1 检测便捷, 价格低, 且不易受饮食及其他因素影响。因此当 MM 患者 Apo A1 明显下降时, 应立即完善骨髓穿刺及免疫固定电泳等检查以明确患者病情是否恶化, 以便及时调整化疗方案。

目前的问题是 Apo A1 较高的 MM 患者更易达到疾病缓解的原因。研究发现, Apo A1 不仅对适应性免疫的 T 细胞有调节作用^[11], 在肿瘤微环境中也有很强的免疫调节作用。其可间接将肿瘤相关

巨噬细胞从肿瘤前 M2 表型转变为抗肿瘤 M1 表型, 从而达到抗肿瘤作用^[12]。Apo A1 还可阻断 SRA 介导的巨噬细胞黏附。有研究者使用小肽抑制剂 4F (一种 D-氨基酸肽, Apo A1 模拟物) 进行靶向治疗, 发现其有助于防止肿瘤进展和远处转移^[13-15]。Zamanian-Daryooush 等^[16]的研究建立了多种动物肿瘤模型, 在肿瘤小鼠体内注入人类 Apo A1 可显著降低肿瘤负荷及转移, 提高生存率, 而缺乏 Apo A1 的小鼠肿瘤生长速度加快且生存率降低。此实验表明 Apo A1 可增加 CD8⁺T 细胞的表达, 增加 M1 抗肿瘤巨噬细胞, 减少肿瘤相关血管形成, 减少肿瘤的侵袭及转移。研究者同时还发现 Apo A1 可控制肿瘤细胞的增殖速率和肿瘤的生长速度。促炎和促血管生成的溶血磷脂如溶血磷脂酸已被证明与肿瘤进展和不良预后相关, 可通过 Apo A1 从血清中清除, Apo A1 过表达可抑制肿瘤生长^[17-18]。研究结果显示, Apo A1 有抑制肿瘤生长的作用, 其减少可能导致肿瘤快速生长。但 MM 患者为何出现 Apo A1 减低, 机制暂不明确, 可能为肿瘤的恶性消耗, 也可能为某种特殊机制导致 Apo A1 生成减少。

关于 Apo A1 在 MM 中作用的报道很少, 目前暂无大量数据分析及基础机制研究, 因此需要进一步的研究以阐明 Apo A1 在 MM 中的作用。Apo A1 水平在 MM 的病程中存在动态变化, 不仅可作为评价和预测 MM 疾病严重程度的参考, 还可作为反映患者免疫缺陷状态和肿瘤负荷的潜在标志物。通过动物实验可证实 Apo A1 可以作为抗癌剂用于治疗肿瘤, 提高患者的生存率。值得探索的是, 我们是否可以通过输注 Apo A1 或其他方式提高 Apo A1 水平而治疗 MM, 以延长患者的生存期。

参 考 文 献

- [1] Kumar SK, Callander NS, Alsina M, et al. NCCN Guidelines Insights: Multiple Myeloma, Version 3.2018 [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2018, 16(1): 11-20. DOI: 10.6004/jncn.2018.0002.
- [2] Furberg AS, Veierød MB, Wilsgaard T, et al. Serum high-density lipoprotein cholesterol, metabolic profile, and breast cancer risk [J]. J Natl Cancer Inst, 2004, 96(15):1152-1160. DOI: 10.1093/jnci/djh216.
- [3] Pui CH, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia [J]. N Engl J Med, 2006, 354(2):166-178. DOI: 10.1056/NEJMra052603.
- [4] Liu Q, Luo Q, Halim A, et al. Targeting lipid metabolism of cancer cells: A promising therapeutic strategy for cancer [J]. Cancer Lett, 2017, 401:39-45. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.

- 05.002.
- [5] Egler RA, Li Y, Dang TA, et al. An integrated proteomic approach to identifying circulating biomarkers in high-risk neuroblastoma and their potential in relapse monitoring [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2011, 5 (9-10):532-541. DOI: 10.1002/prca.201000089.
- [6] Lei T, Zhao X, Jin S, et al. Discovery of potential bladder cancer biomarkers by comparative urine proteomics and analysis [J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2013, 11 (1):56-62. DOI: 10.1016/j.clgc.2012.06.003.
- [7] Murakoshi Y, Honda K, Sasazuki S, et al. Plasma biomarker discovery and validation for colorectal cancer by quantitative shotgun mass spectrometry and protein microarray [J]. *Cancer Sci*, 2011, 102 (3):630-638. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01818.x.
- [8] Slawinska-Brych A, Zdzisinska B, Mizerska-Dudka M, et al. Induction of apoptosis in multiple myeloma cells by a statin-thalidomide combination can be enhanced by p38 MAPK inhibition [J]. *Leuk Res*, 2013, 37(5):586-594. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.01.022.
- [9] Sanfilippo KM, Keller J, Gage BF, et al. Statins Are Associated With Reduced Mortality in Multiple Myeloma [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(33):4008-4014. DOI: 10.1200/JCO.2016.68.3482.
- [10] Schmidmaier R, Baumann P, Simsek M, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin overcomes cell adhesion-mediated drug resistance in multiple myeloma by geranylgeranylation of Rho protein and activation of Rho kinase [J]. *Blood*, 2004, 104(6):1825-1832. DOI: 10.1182/blood-2003-12-4218.
- [11] Wilhelm AJ, Zabalawi M, Owen JS, et al. Apolipoprotein A-I modulates regulatory T cells in autoimmune LDLr^{-/-}, ApoA-I^{-/-} mice [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (46):36158-36169. DOI: 10.1074/jbc.M110.134130.
- [12] Gao F, Vasquez SX, Su F, et al. L-5F, an apolipoprotein A-I mimetic, inhibits tumor angiogenesis by suppressing VEGF/basic FGF signaling pathways [J]. *Integr Biol (Camb)*, 2011, 3 (4):479-489. DOI: 10.1039/c0ib00147c.
- [13] Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer [J]. *Curr Mol Med*, 2010, 10(4):369-373. DOI: 10.2174/156652410791316968.
- [14] Ben-Neriah Y, Karin M. Inflammation meets cancer, with NF- κ B as the matchmaker [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(8):715-723. DOI: 10.1038/ni.2060.
- [15] Colotta F, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability [J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(7):1073-1081. DOI: 10.1093/carcin/bgp127.
- [16] Zamanian-Daryoush M, Lindner D, Tallant TC, et al. The cardio-protective protein apolipoprotein A1 promotes potent anti-tumorigenic effects [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288 (29):21237-21252. DOI: 10.1074/jbc.M113.468967.
- [17] Su F, Kozak KR, Imaizumi S, et al. Apolipoprotein A-I (apoA-I) and apoA-I mimetic peptides inhibit tumor development in a mouse model of ovarian cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(46):19997-20002. DOI: 10.1073/pnas.1009010107.
- [18] Cedó L, García-León A, Baila-Rueda L, et al. ApoA-I mimetic administration, but not increased apoA-I-containing HDL, inhibits tumour growth in a mouse model of inherited breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:36387. DOI: 10.1038/srep36387.

(收稿日期:2020-03-14)

(本文编辑:律琦)

·读者·作者·编者·

关于重视引用国内文献的意见

部分作者在撰写论文时,只引用国外文献(或非中文语种的文献)。诚然,在医学的许多领域,国内的研究水平确实有待提高,有引用国外文献的必要。但是,不引用国内相关文献,将存在以下问题:①作者没有阅读国内文献,这样作者阅读的文献就不全面,作者所撰写的论文、综述等的科学性、先进性就值得商榷。②不引用国内文献,就不能准确、全面地反映国内的研究水平和进展,毕竟本刊发表的文章主要的阅读对象是中国医师。③有的作者虽然阅读了国内文献,但未引用。不引用国内文献的想法可能更为复杂,如轻视或忽略国内同行,或暗示首创权。除非是专门的国外医学文摘或国外文献综述,均应有国内文献的复习、引用和注解。本刊倡导在论文的撰写中应维护参考文献的科学性,鼓励作者在引用国外文献的同时检索并引用国内相关的文献。

本刊编辑部